Untersuchungen über HK, TIM, GAPDH, PGK, Enolase, PK, LDH, GPT, ChE, und Katalase im Liquor cerebrospinalis unter besonderer Berücksichtigung von Tumoren im Bereich des ZNS

INAUGURALDISSERTATION

zur Erlangung der Doktorwürde der

HOHEN MEDIZINISCHEN FAKULTÄT
DER UNIVERSITÄT DES SAARLANDES

vorgelegt von

MICHAEL STIFFEL

Saarbrücken

1972

Aus der Neurochirurgischen Klinik der Universität des Saarlandes
Direktor : Prof. Dr. med. F. Loew

Untersuchungen über HK, TIM, GAPDH, PGK, Enolase, PK, LDH, GPT, ChE, und Katalase im Liquor cerebrospinalis unter besonderer Berücksichtigung von Tumoren im Bereich des ZNS

I N A U G U R A L D I S S E R T A T I O N
zur Erlangung der Doktorwürde der
HOHEN MEDIZINISCHEN FAKULTÄT
DER UNIVERSITÄT DES SAARLANDES

vorgelegt von
MICHAEL STIFFEL

geb. am. 9.2. 1944 in Regensburg

Dekan : Prof. Dr. med. H. KULENKAMPFF
Referent : Prof. Dr. med. F. LOEW

UNIV.
LEIDEN
BIBL.

Die mündliche Prüfung wurde am 13. Dezember 1972 abgelegt.

Inhaltsverzeichnis

Seite :

I. Einleitung..... 1

II. Darstellung der eigenen Befunde

1. Methodik

1.1 Liquorgewinnung..... 8

1.2 Enzymbestimmung

1.2.1 Allgemeine Methodik..... 8

1.2.2 Hexokinase-Nachweis..... 11

1.2.3 TIM-Nachweis..... 13

1.2.4 GAPDH-Nachweis..... 14

1.2.5 PKG-Nachweis..... 15

1.2.6 Enolase-Nachweis..... 16

1.2.7 PK-Nachweis..... 17

1.2.8 LDH-Nachweis..... 18

1.2.9 GPT-Nachweis..... 19

1.2.10 ChE-Nachweis..... 20

1.2.11 Katalase-Nachweis..... 21

2. Enzymbestimmung (Ergebnisse)

2.1 Allgemeines über die Darstellung der Ergebnisse..... 23

2.2 HK-Aktivität..... 24

2.3 TIM-Aktivität..... 25

2.4 GAPDH-Aktivität..... 26

2.5 PKG-Aktivität..... 27

2.6 Enolase-Aktivität..... 28

2.7 PK-Aktivität..... 29

2.8 LDH-Aktivität 30
2.9 GPT-Aktivität 31
2.10 ChE-Aktivität 32
2.11 Katalase-Aktivität 33

III Besprechung der Befunde 34

IV. Zusammenfassung 42

V. Literaturverzeichnis 43

VI. Abkürzungsverzeichnis 55

Lebenslauf

I. Einleitung

Der Nachweis von Enzymen im Liquor cerebrospinalis kann in der Neurologie und Neurochirurgie von Interesse sein.

Schon 1912 hatte KAFKA entdeckt, daß Enzymaktivitäten in der Cerebrospinalflüssigkeit zu messen sind, und daß sie unter pathologischen Verhältnissen zunehmen können. Seitdem sind in der Fachliteratur immer wieder Arbeiten erschienen, in denen über das Vorkommen von Enzymen im Liquor und deren diagnostische Brauchbarkeit berichtet wurde. Tabelle 1 gibt einen Überblick über bisher im Liquor nachgewiesene Fermente.

Gegenüber der Norm erhöhte Enzymaktivitäten wurden von vielen Autoren gefunden bei cerebro-meningealen Entzündungen, nach traumatischen Hirnschädigungen und cerebro-vaskulären Prozessen (BRAUN u. LEY, 1966 ; DELANK, 1963 ; ENGELHARDT-GÖLKEL et al, 1963 ; FAZIO et al., 1961 ; FLEISHER et al., 1957 ; GUZOWSKI und KNOBLOCH, 1963 ; HEITMANN et al., 1964 ; HOHENEGGER u. BUCHINGER, 1965 ; JAKOBY, 1958 ; LIEBERMANN et al., 1957 ; MANSO u. WROBLEWSKI, 1958 ; MARCHIONINI et al., 1932 ; PREC et al. 1962 ; VAN RYMENANT et al., 1960 ; SITZMANN, 1969 ; SHUTTLEWORTH et al., 1968 ; SZASZ, 1962 ; VERREY, 1962 ; WAKIM et al., 1956 ; WIECHERT u. BRETSCHNEIDER, 1969 ; WOLFF et al., 1965 ; WOLINTZ et al., 1969).

Widersprüchlich sind dagegen die Befunde, die von Patienten mit Tumoren im Bereich des ZNS vorliegen (ALLEN u. REAGAN, 1964 ; ANLYAN u. STARR, 1952 ; BRAUN u. LEY, 1966 ; DAVIES-

JONES, 1969 ; ENGELHARDT-G. et al, 1958 ; FLEISHER et al., 1957 ; FRICK, 1967 ; GREEN et al., 1958 u. 1959 ; HEITMANN et al., 1964 ; HELLER et al., 1971 ; HERSCHKOWITZ u. CUMINGS, 1964 ; JAKOBY u. JAKOBY, 1958 ; KLUGE et al., 1969 ; MIYAZAKI, 1958 ; PREC et al., 1962 ; de RISIO u. CUMINGS, 1960 ; VAN RYMENANT, 1960 u. 1966 ; SHERWIN et al., 1969 ; SCHÜTZ u. SOLCHER, 1963 ; THOMPSON et al., 1959 ; TYLER u. BROMBERGER, 1960 ; WROBLEWSKI, 1959).

Die Diskrepanz der bisherigen Ergebnisse und die Hoffnung auf eine mögliche Bereicherung in der Diagnostik intrakranieller Neoplasien waren der Anlaß zu der vorliegenden Arbeit.
Es soll darin geprüft werden, ob im Liquor von Hirntumorpatienten diagnostisch verwertbare Enzymaktivitätsänderungen gegenüber "Gesunden" und anderen neurologisch bzw. neurochirurgisch erkrankten Patienten bestehen.

Da bei Tumoren die Glykolyse verstärkt ist, und auch in verschiedenen Hirntumoroperationspräparaten erhöhte Aktivitäten glykolytischer Enzyme nachgewiesen wurden (DITTMANN, HERRMANN, LOEW u. PALLESKE), lag es nahe, besonders nach glykolytischen Enzymen zu suchen.
Neben der Lactat-Dehydrogenase, die besonders häufig gemessen wurde, sind in der vorliegenden Arbeit noch folgende Fermente untersucht worden : Hexokinase, Triosephosphat-Isomerase, Glycerinaldehyd-3-phosphat-Dehydrogenase, 3-Phosphoglycerat-Kinase, Enolase und Pyruvat-Kinase. Wegen ihrer ubiquitären Verbreitung wurden noch Cholinesterase und Glutamat-Pyruvat-Transaminase bestimmt.
Weil Blutzellen neben hoher Aktivität an glykolytischen Enzymen auch beträchtliche Mengen von Katalase enthalten, wurde

auch versucht, Katalase in solchen Liquores nachzuweisen, die durch erhöhte Aktivität glykolytischer Fermente auffielen, um damit eventuell Rückschlüsse auf deren Ursprung machen zu können.

TABELLE 1

ENZYM	AUTOR	
Adenosin-Desaminase	: KLUGE, WINKLER, WIECZOREK u. VOLLHARDT	1969
Aldolase	: KULHANEK u. KABELACOVA	1964
	SITZMANN	1969
Aldolase-Isoenzyme	: TSCHANKOW u. DIKOW	1970
Cholinesterase	: WOLLEMANN u. HUSZAK	1949
	KALSBEEK, COHEN u. BOVENS	1950
	BERNSOHN, BOSHES u. POSSLEY	1958
	SVENSMARK	1961
	HELLER, OLDENKOTT, DRIESEN, ELIES u. BLANKENHORN	1971
Diastase	: KAFKA	1912
	MARCHIONINI u. OTTENSTEIN	1932
ß-Glucuronidase	: ANLYAN u. STARR	1952
	ALLEN u. REAGAN	1964
	SHUTTLEWORTH u. ALLEN	1968
Glutamat-Dehydrogenase	: SITZMANN	1969
Glutamat-Oxalacetat-Transaminase	: WAKIM u. FLEISHER	1956
	FLEISHER, WAKIM u. GOLDSTEIN	1957
	LIEBERMANN, DAUBER, KULKIN, LOBSTEIN u. KAPLAN	1957
	KATZMANN, FISHMAN u. GOLDENSOHN	1957

FORTSETZUNG TABELLE 1

ENZYM	AUTOR	
Glutamat-Oxalacetat-Transaminase	: MYERSON, HURWITZ u. SALL	1957
	GREEN, OLDEWURTEL	1958
	O'DOHERTY u. FORSTER	u.1959
	MIYAZAKI	1958
	MANN, DE PASQUALE u. PATERSON	1960
	JEZEK u. TOVAREK	1961
	FAZIO, FIESCHI, SORIANI	1961
	VERREY	1962
	SCHÜTZ u. SOLCHER	1963
	HEITMANN, LÖSER u. STAMMLER	1964
	HOHENNEGER u. BUCHINGER	1965
	BRAUN u. LEY	1966
	DAVIES-JONES	1969
	SITZMANN	1969
	HELLER, OLDENKOTT, DRIESEN, ELIES u. BLANKENHORN	1971
Glutamat-Pyruvat-Transaminase	: WAKIM u. FLEISHER	1956
	MYERSON, HURWITZ u. SALL	1957
	STEVENS, MAJKA u. HUMOLLER	1959
	FAZIO, FIESCHI u. SORIANI	1961
	VERREY	1962
	SCHÜTZ u. SOLCHER	1963
	HOHENEGGER u. BUCHINGER	1965
	BRAUN u. LEY	1966
	SITZMANN	1969
	HELLER, OLDENKOTT, DRIESEN, ELIES u. BLANKENHORN	1971
Glutathion-Reduktase	: MANSO u. WROBLEWSKI	1958

FORTSETZUNG TABELLE 1

ENZYM	AUTOR	
α-Hydroxybutyrat-Dehydrogenase	SITZMANN	1969
Isocitrat-Dehydrogenase	VAN RYMENANT, ROBERT and OTTEM	1960 u. 1966
	SITZMANN	1969
Kreatin-Kinase	HERSCHKOWITZ u. CUMINGS	1964
	FRICK	1967
	LISAK u. GRAIG	1967
	NATHAN	1967
	WOLINTZ, JAKOBS, SOLOMON u. CHERNIK	1969
	SHERWIN, NORRIS u. BULCKE	1969
Lactat-Dehydrogenase	BRUNS, JAKOB u. WEVERINCK	1956
	FLEISHER, WAKIM u. GOLDSTEIN	1957
	WROBLEWSKI, DECKER u. WROBLEWSKI	1957 u. 1958
	ENGELHARDT-GÖLKEL, FRICK, SCHRADER u. STUHLFAUTH	1958
	GREEN, OLDEWURTEL, O'DOHERTY u. FORSTER	1958
	JAKOBY u. JAKOBY	1958
	DE RISIO u. CUMINGS	1960
	TYLER u. BROMBERGER	1960
	VERNEY	1962
	DELANK	1963
	SCHÜTZ u. SOLCHER	1963
	WOLFF u. ZERNA	1965
	DITTMANN	1968
	SITZMANN	1969
	WOLINTZ, JAKOBS, CHRISTOFF, SOLOMON, u. CHERNIK	1969
	HELLER, OLDENKOTT, DRIESEN, ELIES u. BLANKENHORN	1971

FORTSETZUNG TABELLE 1

ENZYM	AUTOR	
Lipasen	HILLER	1927
	SEUBERLING	1938
Malat-Dehydrogenase	ENGELHARDT-GÖLKEL, FRICK, SCHRADER u. STUHLFAUTH	1958
	DELANK	1963
	SCHÜTZ u. SOLCHER	1963
	HEITMANN, LÖSER u. STAMMLER	1964
	SITZMANN	1969
Ornithin-Carbamoyl-Transferase	WEBER	1963
	KLUGE, WIECZOREK, UNGER u. GREGER	1967
Oxydoreduktasen	MANSO u. WROBLEWSKI	1958
	KLUGE u. WIECZOREK	1966
Peptidasen	STERN, CULLEN, BARBER u. RICHTER	1950
	SZASZ	1962
	GREEN u. PERRY	1963
	WIECHERT	1966
	SWINNEN u. de BARSY	1966
	SITZMANN	1969
	WIECHERT u. BRETSCHNEIDER	1969
Phosphatase (alk. u. sauer)	GUZOWSKI u. KNOBLOCH	1963
Phosphohexose-Isomerase	BRUNS, JAKOB u. WEVERINCK	1956
	THOMPSON, HIRSCHBERG, OSNOS u. GELLHORN	1959
	DE RISIO u. CUMINGS	1961
Phosphoribose-Isomerase	BRUNS, JAKOB u. WEVERINCK	1956

FORTSETZUNG TABELLE 1

ENZYM	AUTOR	
Ribonuclease	: KOVACS	1953
Sorbit-Dehydrogenase	: VERREY SITZMANN	1962 1969
Triosephosphat-Isomerase	: BAUER, GABA[illegible] u. BÜCHER	1952

II. Darstellung der eigenen Befunde

1. Methodik

1.1. Liquorgewinnung

Die Liquores wurden durch Lumbalpunktion gewonnen und bei 3 000·g 10 Minuten lang zentrifugiert. Die Bestimmungen erfolgten normalerweise am gleichen Tage, spätestens jedoch 24 Std. nach der Entnahme. Zwischen Entnahme und Untersuchung wurde der Liquor im Kühlschrank bei ca. + 4° C aufbewahrt. Zur Auswertung der Ergebnisse wurden blutige oder xanthochrome Liquores nicht berücksichtigt.

1.2. Enzymbestimmung

1.2.1 Allgemeine Methodik

Die Aktivitäten der Enzyme wurden durch Photometrie gemessen. Bei den glykolytischen Fermenten und der Transaminase wurde der optische Test von WARBURG angewandt. Bei den Messungen wurden die Vorschriften des Handbuches von BERGMEYER berücksichtigt.
Für Cholinesterase und Katalase kamen andere photometrische Verfahren zur Anwendung.
Der Optische Test beruht auf der Tatsache, daß reduziertes Nicotinamid-adenin-dinucleotid (NADH) bei 340 nm ein Absorptionsmaximum hat, während oxydiertes Nicotinamid-adenin-dinucleotid (NAD) bei der gleichen Wellenlänge nur schwache Lichtabsorption hat. Aus der Geschwindigkeit der Zunahme (Abnahme) der Extinktion bei 340 nm in Test-Ansätzen mit NAD

und oxydierbarem Substrat (bzw. mit NADH und reduzierbarem Substrat) kann also die Aktivität des Enzyms berechnet werden, das die gemessene Redox-Reaktion katalysiert. Dieser optische Test kann auch zur Messung von Reaktionen angewandt werden, die keine Oxydationen enthalten. Wenn z.B. Hexokinase Glukose durch ATP zu Glukose-6-phosphat phosphoryliert, so ist das keine Redox-Reaktion. Man kann aber das entstandene Glukose-6-phosphat durch das in hoher Aktivität zugesetzte Hilfsenzym Glukose-6-phosphat-Dehydrogenase zu 6-Phospho-Glukonat oxydieren und die Geschwindigkeit des sich dabei aus NADP bildenden NADPH messen. Wenn man Hilfsenzym in großem Überschuß zugibt, wird die Geschwindigkeit der "Indikator-Reaktion" durch die Geschwindigkeit limitiert, mit der in der zu messenden Reaktion das Reaktionsprodukt entsteht. Dieses Verfahren nennt man den "zusammengesetzten Test". Allgemein wird die Aktivität der Enzyme heute in Internationalen Einheiten angegeben ("U" abgekürzt), die man nach folgender Formel berechnet :

$$U = \frac{\Delta E \cdot V}{10^{-6} \cdot \varepsilon \cdot d \cdot v \cdot t}$$

Hierbei bedeuten :

U : Enzymaktivität (µMol Substratumsatz pro Minute pro ml Probe)

ΔE : Änderung der Extinktion

V : Volumen der Lösung in der Küvette

ε : Extinktionskoeffizient von NADH bzw. NADPH (bei 334 nm : $6 \cdot 10^6$; bei 366 nm : $3{,}3 \cdot 10^6$) (cm^2/Mol)

d : Schichtdicke der Küvette (cm)

v : Volumen der eingesetzten Probe (ml)

t : Zeit (Min.)

(Bei 340 nm ist der Extinktionskoeffizient noch etwas höher als bei 334 nm. Bei 340 nm kann man aber nur mit Spektralphotometern messen, während man mit Filterphotometern auf 334 nm, eine Bande des Quecksilberdampf-Spektrums, angewiesen ist).

Die Enzymaktivitäten werden heute allgemein bei 25° C und unter optimalen Bedingungen (maximaler Substrat-Umsatz bei gegebener Enzymaktivität) gemessen. Diesen beiden Forderungen wurde unter unseren Versuchsbedingungen zu genügen versucht : die Messungen wurden in einem EPPENDORF-Photometer mit temperierbarem Küvettenhalter bei 25° C durchgeführt. Glasküvetten mit 1 cm Schichtdicke, Wellenlänge 334 nm, Photozelle 90 b. Die Versuchsbedingungen wurden bei den NAD-abhängigen Enzymen nach den Angaben von BOEHRINGER, Mannheim, eingerichtet. (Bei Pyruvat-Kinase und der Glutamat-Pyruvat-Transaminase nach den Vorschriften der Testpackungen, bei Lactat-Dehydrogenase ebenfalls nach Testpackung, jedoch in der Abwandlung von DITTMANN (1968), bei den übrigen Glykolyse-Enzymen wurden die Konzentrationen verwendet, unter denen bei BOEHRINGER die Aktivitäten der reinen Enzyme geprüft werden. Sämtliche Hilfsenzyme wurden von BOEHRINGER, Mannheim, bezogen).

Zwei Besonderheiten des Liquors machten allerdings gewisse Abweichungen von der von BOEHRINGER empfohlenen Arbeitsweise notwendig :

1.) Wenn überhaupt im Liquor Glykolyse-Enzyme vorkommen, dann wahrscheinlich nicht in hohen Aktivitäten. Die Test-Vorschriften wurden deshalb so abgewandelt, daß wesentlich größere Proben-Volumina (0,5 ml) eingesetzt werden konnten : die einzelnen

Reagenzien wurden in höherer Konzentration aber geringerer Menge eingesetzt. Dadurch konnten bei gleichbleibendem Gesamt-Volumen die End-Konzentrationen der einzelnen Substanzen im Test-Ansatz unverändert beibehalten werden.

2.) Liquor enthält wechselnde Mengen von Pyruvat und LDH. Wenn man diese Proben mit Zusätzen von NADH in geeigneten Pufferlösungen inkubiert, dann kommt stets eine gewisse Extinktionsabnahme durch Hydrierung des Pyruvats durch NADH zu Lactat zustande. Diese Reaktion täuscht dann zu hohe Aktivität anderer Enzyme in NADH-verbrauchenden Reaktionen vor. Diese Störreaktion wurde dadurch umgangen, daß zunächst das komplette Reaktionsgemisch ohne Substrat inkubiert wird. Wenn die Extinktion sich nicht mehr verändert (bzw. nur noch einen sehr langsamen "Gang" zeigt), wird durch Zugabe von Substrat-Lösung die eigentlich zu messende Reaktion gestartet. Aus der Extinktionsänderung während der Vorinkubation erhält man ohne zusätzlichen Arbeitsaufwand den genäherten Pyruvat-Gehalt der untersuchten Liquorprobe (DITTMANN, 1970).

Im einzelnen wurde nach folgenden Verfahren gearbeitet :

1.2.2. Hexokinase-Nachweis

Test-Prinzip :

$$\text{Glukose} + \text{ATP} \xrightarrow{\text{HK}} \text{G-6-P} + \text{ADP}$$

$$\text{G-6-P} + \text{NADP}^+ \xrightarrow{\text{G-6-PDH}} \text{Glukonat-6-P} + \text{NADPH} + \text{H}^+$$

Hexokinase ist das Enzym, das die Phosphorylierung von Glukose mittels Adenosintriphosphat zu Glukose-6-phosphat kata-

lysiert. Die Aktivität von Hexokinase wurde gemessen durch Oxydation des gebildeten Glukose-6-phosphates zu Glukonat-6-phosphat mit NADP unter Katalyse durch Glukose-6-phosphat-Dehydrogenase. Dabei wird die Bildung des NADPH durch Messung der Zunahme der Extinktion bei 334 nm erfaßt.

Selbst die Glukose-6-phosphat-Dehydrogenase "Reinheitsgrad I" enthält, auch vom Hersteller bescheinigt, als Verunreinigung kleine Mengen von Hexokinase. Diese Hexokinase-Aktivität des Hilfsenzyms wurde in folgender Weise berücksichtigt : zunächst wird 6 Min. lang die Extinktionsänderung des kompletten Testansatzes, jedoch ohne Liquorprobe, gemessen. Nach Zugabe von 0,5 ml Liquorprobe wurde dann die Extinktionszunahme weiterverfolgt. Die aus der Vorinkubation berechnete Hexokinase-Aktivität wurde von der mit Liquor erhaltenen Aktivität subtrahiert.

Reagenzien :

In den Testlösungen				Im Reaktionsansatz	
Substanz	Zusammensetzung (mg/ml)		Molarität (mM)	Testlsg. (ml)	Endmolarität (mM)
TRA[x]	Hydrochlorid	14,93	80,38	0,79	21,20
Glukose	Monohydrat	100,0	504,60	1,20	201,80
$MgCl_2$	Hexahydrat	20,32	100,0	0,20	6,67
NADP	Na-Salz	10,0	11,43	0,20	0,76
ATP	Na-Salz	10,0	16,17	0,10	0,54
G-6-PDH	BOEHRINGER Reinheitsgr.I	1,0		0,01	
Liquor				0,50	

x) wobei für pH 7,6 zu 1 mg Triäthanolamin·HCl 0,0108 ml 0,2 N NaOH zugefügt wird.

1.2.3 Triosephosphat-Isomerase-Nachweis

Test-Prinzip :

GAP $\xrightarrow{TIM}$ DAP

DAP+ NADH + H^+ $\xrightarrow{GDH}$ Glycerin-1-P + NAD^+

Triosephosphat-Isomerase wandelt die bei der vorangegangenen Aldolase-Reaktion aus Fructose-1.6-diphosphat entstandenen isomeren Bruchstücke Glycerinaldehydphosphat und Dihydroxyacetonphosphat ineinander um. Beim Test setzt man Glycerinaldehyd-phosphat als Substrat ein. Das entstehende Dihydroxyacetonphosphat wird mit NADH in Gegenwart des Hilfsenzyms Glycerin-1-phosphat-Dehydrogenase hydriert, der Verbrauch an NADH gemessen.

Reagenzien :

In den Testlösungen				Im Reaktionsansatz	
Substanz	Zusammensetzung (mg/ml)		Molarität (mM)	Testlsg. (ml)	Endmolarität (mM)
TRA[x]	Hydrochlorid	68,91	371,1	1,94	240,0
NADH	Na-Salz	10,0	11,72	0,05	0,20
GDH		10,0		0,01	
Liquor				0,50	
D-Glycerinaldehyd-3-phosphat	DL-Glycerinaldehyd-3-phosphat-diäthylacetal, Ba-Salz[xx]	3,0	3,16[xxx]	0,50	0,53

x) wobei für pH 7,6 zu 1 mg Triäthanolamin·HCl 0,0108 ml 0,2 N NaOH zugefügt wird.

xx) Das freie Aldehydphosphat wird nach Vorschrift durch Ionenaustausch an Dowex-50 hergestellt.

xxx) Die Konzentration des optisch aktiven D-Glycerinaldehyd-3-phosphates ist nur 1,58 mM.

1.2.4 Glycerinaldehyd-3-phosphat-Dehydrogenase-Nachweis

Test-Prinzip :

$$\text{Glycerat-3-P} + \text{ATP} \xrightarrow{\text{PGK}} \text{Glycerat-1,3-P}_2 + \text{ADP}$$

$$\text{Glycerat-1,3-P}_2 + \text{NADH} + \text{H}^+ \xrightarrow{\text{GAPDH}} \text{GAP} + \text{NAD}^+ + \text{P}_i$$

Glycerinaldehyd-3-phosphat-Dehydrogenase katalysiert die Hydrierung von 1.3-Diphosphoglycerat durch NADH zu Glycerinaldehyd-3-phosphat, wobei eine Phosphatgruppe abgespalten wird. Der Verbrauch von NADH, der gemessen wird, ermöglicht direkte Messung der Enzym-Aktivität. Das Substrat Glycerat-1.3-diphosphat ist allerdings nicht käuflich erhältlich. Es wird deshalb im Reaktionsansatz durch Phosphorylierung von Glycerat-3-phosphat mittels ATP unter Verwendung eines Überschusses des Hilfsenzyms 3-Phosphoglycerat-Kinase hergestellt.

Reagenzien :

In den Testlösungen			Im Reaktionsansatz		
Substanz	Zusammensetzung (mg/ml)		Molarität (mM)	Testlsg. (ml)	Endmolarität (mM)
TRA[x]	Hydrochlorid	23,17	124,75	1,98	82,33
ATP	Na-Salz	20,00	32,33	0,10	1,08
EDTA	Di-Na-Salz in Puffer	10,00	26,87	0,10	0,90
$MgSO_4$	Heptahydrat	24,65	100,00	0,06	2,00
NADH	Na-Salz	10,00	11,72	0,05	0,20
PGK		10,00		0,01	
Liquor				0,50	
Glycerat-3-P	Ba-Salz[xx]	33,33	91,35	0,20	6,09

x) wobei für pH7,6 zu 1 mg Triäthanolamin·HCl 0,0108 ml 0,2 N NaOH zugefügt wird.

xx) in Pufferlösung unter Zusatz von 0,183 ml 1 N H_2SO_4/ml, nach Fällung zentrifugiert.

1.2.5 3-Phosphoglycerat-Kinase-Nachweis

Test-Prinzip :

$$\text{Glycerat-3-P} + \text{ATP} \xrightarrow{\text{PGK}} \text{Glycerat-1,3-P}_2 + \text{ADP}$$

$$\text{Glycerat-1,3-P}_2 + \text{NADH} + \text{H}^+ \xrightarrow{\text{GAPDH}} \text{GAP} + \text{NAD}^+ + \text{P}_i$$

Die bereits beim vorigen Enzym als Hilfsenzym verwendete 3-Phosphoglycerat-Kinase phosphoryliert Glycerinsäure-3-phosphat zu 1.3-Diphosphoglycerinsäure. Als Indikator-Reaktion dient die Hydrierung des entstehenden 1.3-Diphosphoglycerates durch NADH mittels des Hilfsenzyms Glycerinaldehyd-3-phosphat-Dehydrogenase, das im Überschuß zugegeben wird. Das Reaktionsgemisch ist also analog dem Ansatz zur Bestimmung von Glycerinaldehyd-3-phosphat-Dehydrogenase zusammengesetzt. Lediglich die im Überschuß zugegebenen Hilfsenzyme sind vertauscht.

Reagenzien :

In den Testlösungen				Im Reaktionsansatz	
Substanz	Zusammensetzung (mg/ml)		Molarität (mM)	Testlsg. (ml)	Endmolarität (mM)
TRA[x]	Hydrochlorid	22,94	123,53	2,04	84,00
ATP	Na-Salz	10,00	16,17	0,20	1,08
EDTA	Di-Na-Salz in Puffer	10,00	26,87	0,05	0,45
$MgSO_4$	Heptahydrat	123,25	500,00	0,04	6,67
NADH	Na-Salz	10,00	11,72	0,05	0,20
GAPDH		5,00		0,02	
Liquor				0,50	
Glycerat-3-P	Ba-Salz[xx]	33,33	91,35	0,10	3,05

x) wobei für pH 7,6 zu 1 mg Triäthanolamin·HCl 0,0108 ml 0,2 N NaOH zugefügt wird.

xx) in Pufferlösung unter Zusatz von 0,183 ml 1 N H_2SO_4/ml, nach Fällung zentrifugiert.

1.2.6 Enolase-Nachweis

Test-Prinzip :

$$\text{Glycerat-2-P} \xrightarrow{\text{Enolase}} \text{PEP} + H_2O$$

$$\text{PEP} + \text{ADP} \xrightarrow{\text{PK}} \text{Pyruvat} + \text{ATP}$$

$$\text{Pyruvat} + \text{NADH} + H^+ \xrightarrow{\text{LDH}} \text{L-Lactat} + NAD^+$$

Enolase spaltet aus 2-Phosphoglycerinsäure Wasser ab, dabei bildet sich Phosphoenolbrenztraubensäure. Diese Reaktion benötigt weder NAD noch NADH. Sie kann mit zwei Hilfsreaktionen gemessen werden : man gibt ADP in den Ansatz, das in Gegenwart von Pyruvat-Kinase den Phosphatrest des Phosphoenolpyruvates aufnimmt und dabei in ATP übergeht. Das so frei werdende Pyruvat wird durch NADH in Gegenwart von Lactat-Dehydrogenase quantitativ zu Lactat umgesetzt. Die durch den NADH-Verbrauch bedingte Extinktionsabnahme ist bei genügendem Überschuß von Hilfsenzym ein Maß für die Enolase-Aktivität der eingesetzten Probe.

Reagenzien :

In den Testlösungen				Im Reaktionsansatz	
Substanz	Zusammensetzung (mg/ml)		Molarität (mM)	Testlsg. (ml)	Endmolarität (mM)
TRA[x]	Hydrochlorid	23,12	124,49	1,96	81,33
ADP	Na-Salz	10,00	16,85	0,20	1,12
$MgSO_4$	Heptahydrat	369,75	1500,00	0,05	25,00
KCl		223,65	3000,00	0,10	100,00
NADH	Na-Salz	10,00	11,72	0,05	0,20
LDH	Schweineherz	2,00		0,02	
PK	Kristallsuspension	2,00		0,02	
Liquor				0,50	
Glycerat-2-P	Na-Salz	20,00	52,65	0,10	1,76

x) wobei für pH 7,6 zu 1 mg Triäthanolamin·HCl 0,0108 ml 0,2 N NaOH zugefügt wird.

1.2.7 Pyruvat-Kinase-Nachweis

Test-Prinzip :

$$PEP + ADP \xrightarrow{PK} Pyruvat + ATP$$

$$Pyruvat + NADH + H^+ \xrightarrow{LDH} L\text{-}Lactat + NAD^+$$

Pyruvat-Kinase überträgt den Phosphat-Rest von Phosphoenolpyruvat auf ADP, das dadurch zu ATP phosphoryliert wird. Die Aktivität kann dadurch gemessen werden, daß man das entstandene Pyruvat mit NADH in Gegenwart des Hilfsenzyms Lactat-Dehydrogenase zu Lactat hydriert. Das dabei in stöchiometrischer Menge verbrauchte NADH wird durch Messung der Abnahme der Extinktion erfaßt.

Reagenzien :

In den Testlösungen			Im Reaktionsansatz	
Substanz	Zusammensetzung (mg/ml)	Molarität (mM)	Testlsg. (ml)	Endmolarität (mM)
TRA pH 7,5		160,00		123,10
KCl		120,00	2,50	92,30
$MgSO_4$	UV-Test BOEHRINGER	21,00		16,20
EDTA		1,30		1,00
NADH	Original-	6,00	0,10	0,18
PEP	Packung	32,50		1,00
LDH			0,05	
Liquor			0,50	
ADP		100,00	0,10	3,08

1.2.8 Lactat-Dehydrogenase-Nachweis

Test-Prinzip :

$$\text{Pyruvat} + \text{NADH} + H^+ \xrightarrow{\text{LDH}} \text{L-Lactat} + NAD^+$$

Lactat-Dehydrogenase, das letzte Enzym in der elfstufigen Glykolyse-Kette, hydriert Pyruvat mittels NADH zu Lactat. Diese einfache Reaktion kann direkt durch Messung der Extinktionsabnahme verfolgt werden. Es wurden die Lösungen von BOEHRINGER-Testpackungen verwendet, lediglich die NADH- und Pyruvat-Konzentrationen wurden erhöht, weil sich in früheren Versuchen herausgestellt hatte, das man so mit den gleichen Liquorproben höhere LDH-Aktivitäten mißt.

Reagenzien :

In den Testlösungen			Im Reaktionsansatz	
Substanz	Zusammensetzung (mg/ml)	Molarität (mM)	Testlsg. (ml)	Endmolarität (mM)
Phosphatpuffer pH 7,5	UV-Test BOEHRINGER	50,00	2,95	46,83
Natriumpyruvat	Original-Packung In 110 ml Pufferlösung 9 mg	1,03		0,96
NADH		9,00	0,10	0,29
Liquor	Natriumpyruvat lösen. (DITTMANN, 1968)		0,10	

1.2.9 Glutamat-Pyruvat-Transaminase-Nachweis

Test-Prinzip :

$$\text{Alanin} + \alpha\text{-Ketoglutarat} \xrightarrow{\text{GPT}} \text{Pyruvat} + \text{Glutamat}$$

$$\text{Pyruvat} + \text{NADH} + \text{H}^+ \xrightarrow{\text{LDH}} \text{L-Lactat} + \text{NAD}^+$$

Glutamat-Pyruvat-Transaminase katalysiert die Übertragung der Amino-Gruppe von Alanin auf Ketoglutarat, wobei aus Alanin Pyruvat und aus Ketoglutarat Glutamat entstehen. Diese Reaktion ist keine Redox-Reaktion, und deshalb ist sie unabhängig von NAD oder NADH. Wenn man NADH und LDH als Hilfsenzym zufügt, kann man jedoch das entstehende Pyruvat zu Lactat hydrieren. Die damit verbundene Extinktionsabnahme (Abnahme der NADH-Konzentration) ist ein direktes Maß für die Menge des gebildeten Pyruvates, also für die Transaminase-Aktivität. Glutamat-Pyruvat-Transaminase wurde nach der Original-Testpackung von BOEHRINGER, Mannheim, bestimmt.

Reagenzien :

In den Testlösungen			Im Reaktionsansatz	
Substanz	Zusammensetzung (mg/ml)	Molarität (mM)	Testlsg. (ml)	Endmolarität (mM)
Phosphatpuffer, pH 7,4	UV-Test	100,00	3,00	81,81
DL-Alanin	BOEHRINGER	80,00		65,45
α-Ketoglutarat	Originalpackung	250,00	0,10	6,76
NADH		12,00	0,05	0,16
LDH			0,05	
Liquor			0,50	

1.2.10 Cholinesterase-Nachweis

Test-Prinzip :

S-Butyryl-Thiocholin $\xrightarrow{ChE}$ Thiocholin + Butyrat

Cholinesterase katalysiert die Verseifung von Estern des Cholins. In der durchgeführten Bestimmung wurde als Substrat S-Butyryl-Thiocholinjodid verwendet. Dieses Substrat wird nur durch Plasma-Cholinesterase, nicht jedoch durch Erythrozyten-Cholinesterase gespalten. Der Test ist dadurch unempfindlich gegen Verunreinigung der Proben durch Hämolyse. Ein weiterer Vorteil der Verwendung von S-Butyryl-Thiocholinjodid als Substrat liegt darin, daß das bei der Hydrolyse frei werdende Thiocholin leicht quantitativ nachweisbar ist. Als Indikator wird 5.5-Dithio-bis-2-nitrobenzoat verwendet. Die Di-Thio-Verbindung wird durch freigesetztes Thiocholin in stöchiometrischer Menge zum 5-Mercapto-2-nitrobenzoat reduziert. Diese Verbindung ist gelb gefärbt, ihre Bildung kann deshalb photometrisch bei 405 nm verfolgt werden. (Die Reduktion ist der Bildung von Cystein aus Cystin vergleichbar).
Cholinesterase wurde nach der Original-Testpackung von MERCK, kinetischer Test, Darmstadt, bestimmt.

Reagenzien :

In den Testlösungen			Im Reaktionsansatz	
Substanz	Zusammensetzung (mg/ml)	Molarität (mM)	Testlsg. (ml)	Endmolarität (mM)
Phosphatpuffer, pH 7,7	Cholinesterase, kinetischer Test, Merck, Originalpackung	20,00	1,91	18,09
5,5'-Dithio-bis-2-nitrobenzoat		0,25		0,23
Butyrylthiocholinjodid		120,00	0,10	5,69
Liquor			0,10	

1.2.11 Katalase-Nachweis

Es wurde die Methode von PÜTTER in der Abwandlung von PÜTTER und STRUFE angewandt. Bei dieser Methode werden die Proben bei pH 7 mit sehr kleinen Substrat (H_2O_2)-Konzentrationen inkubiert. In 1 Min.-Intervallen werden aus dem Inkubationsansatz Proben entnommen, deren H_2O_2-Gehalt nach Umsetzung mit Dianisidin in Gegenwart von Peroxydase kolorimetrisch bestimmt wird. Ein Zusatz von Polyvinylpyrrolidon (nach PÜTTER und STRUFE) stabilisiert den Farbstoff, verschiebt sein Extinktionsmaximum zu höheren Wellenlängen und erhöht vor allen Dingen den Extinktionskoeffizienten.

Lösungen :

1.) SÖRENSEN-Puffer, pH 7 :

Lösung A : 11,876 g $Na_2HPO_4 \cdot 2H_2O$ in Wasser zu 1000 ml lösen.
Lösung B : 4,539 g KH_2PO_4 in Wasser zu 500 ml lösen.

612 ml Lösung A mit 388 ml Lösung B mischen.

2.) Substrat-Lösung :

0,05 ml Perhydrol^R werden mit SÖRENSEN-Puffer auf 100 ml verdünnt.

3.) Testlösung :

25 mg o-Dianisidin werden in 16 ml Äthanol gelöst.
Zu 1,6 ml vorstehender o-Dianisidin-Lösung werden 5 ml Periston^R gegeben, und es wird mit SÖRENSEN-Puffer auf 50ml aufgefüllt.
Zu dieser Lösung wird eine Lösung von 1 mg Peroxydase in 1 ml SÖRENSEN-Puffer gegeben.

Durchführung der Katalase-Bestimmung :

0,2 ml Liquor werden mit 19,8 ml SÖRENSEN-Puffer verdünnt.
Leerwert : 1,5 ml Testlösung werden mit 1,5 ml verdünntem Liquor direkt versetzt.
Anfangswert : Zu 2,5 ml Testlösung werden 0,025 ml H_2O_2-Verdünnung (=Substrat-Lösung) + anschließend 2,5 ml verdünnter Liquor gegeben.
Analyse : Zu den noch verbliebenen 16 ml Liquor-Verdünnung werden 0,16 ml Substrat-Lösung gegeben, es wird rasch gemischt und die Zeit T_o gestoppt.
Nach 1,2,3,4,5 Min. werden jeweils 1,5 ml Inkubationsgemisch entnommen und zu je 1,5 ml Testlösung gegeben.
Die Extinktionen von Anfangswert und Analysenproben werden jeweils genau 10 Min. nach Zusammengeben von Testlösung und H_2O_2-haltiger Lösung bei 492 nm gemessen.
Aus der Abnahme der H_2O_2-Konzentration während der Inkubation (Abnahme der gemessenen Extinktionen) kann die Katalase-Aktivität berechnet werden.

2. Ergebnisse

2.1 Allgemeines über die Darstellung der Ergebnisse :

Zur Auswertung des Zahlenmaterials wurden die Patienten, gemäß der Fragestellung der Arbeit, in drei Gruppen unterteilt.

1.)
Eine kleine Gruppe, die als Kontrolle diente, bildeten solche Patienten, die zum Ausschluß einer neurologischen Erkrankung lumbalpunktiert wurden, bei denen jedoch eine Läsion im Bereich des ZNS nicht nachgewiesen werden konnte. Da sich nach Abschluß der Arbeit herausstellte, daß auch Patienten mit peripheren Neuralgien und Paresen sowie Diskushernien niemals erhöhte Enzymaktivitäten aufwiesen, wurden auch sie mit in diese Gruppe aufgenommen.

2.)
Patienten mit Tumoren im Bereich des ZNS.
Im allgemeinen reichte eine Gliederung in primär benigne, primär maligne und metastatische Hirngeschwülste aus. Auffallende Ergebnisse wurden jedoch nochmals einzeln herausgestellt. Wegen der großen physiologischen Schwankungsbreite wurden als sicher erhöht erst solche Werte angesehen, die den höchst gemessenen Normalwert um mindestens 50 Prozent übertrafen.

3.)
Patienten mit verschiedenen neurologischen bzw. neurochirurgischen Erkrankungen.

Sämtliche Werte sind in internationalen Einheiten (mU/ml) angegeben und stellen den Mittelwert von Doppelbestimmungen dar.

2.2 Hexokinase-Aktivität :

Wie bereits unter 1.2.2 erwähnt, wurde die Hexokinase-Aktivität berechnet durch Subtraktion der bei Vorinkubation erhaltenen Aktivität von der mit Liquor erhaltenen Aktivität. Dabei ergaben sich in einigen Fällen sehr kleine Aktivitäten (Größenordnung 1 µU/ml Liquor), in den meisten Fällen resultierten jedoch nach der Subtraktion der Anfangs-Aktivität negative Hexokinase-Aktivitäten des Liquors.
Anti-Hexokinase-Aktivitäten des Liquors ergaben sich auch bei folgenden Vergleichen : Alle Bestimmungen wurden mit zwei Liquormengen in jeweils doppelter Bestimmung durchgeführt. Diese Liquormengen verhielten sich wie 1:5 oder 1:10. Beim Vergleich der Ergebnisse fällt auf, daß unter insgesamt 13 Liquorproben verschiedener Patienten 9 mal mit der kleineren Liquormenge die höhere Aktivität gefunden wurde. Diese Problematik wurde jedoch nicht weiter verfolgt, weil aus unseren Versuchen mit Sicherheit folgt, daß den Hexokinase-Bestimmungen im Liquor keine praktische Bedeutung zukommt. Der Grund scheint einfach darin zu liegen, daß Hexokinase im Gehirn nicht löslich, sondern teilchengebunden vorkommt (Quastel 1969).

2.3 Triosephosphat-Isomerase-Aktivität :

Untersucht wurden insgesamt 50 Liquores.

	Fallzahl	Mittelwert	Streubreite
Normalliquores	18	38,8	21,5 - 53,8

Tumoren	Fallzahl	Mittelwert	Streubreite
Benigne Tu.	12	33,7	20,0 - 56,8
Maligne Tu.	5	39,2	18,0 - 57,0
Metastasen	1	48,0	-
Tumoren insgesamt	18	40,3	18,0 - 57,0

Übrige Diagnosen	Fallzahl	Mittelwert	Streubreite
Meningitis	2	262,3	88,5 -436,0
Z.n. Schädel-Hirntrauma	5	35,5	17,5 - 59,0
Hydrocephalus	1	47,0	-
Aquäduktstenose	2	37,8	18,5 - 57,0
Exophthalmus bds.	1	71,0	-
Parkinson	1	39,6	-
Liquorfistel	2	38,9	24,0 - 53,8

2.4. Glycerinaldehyd-3-phosphat-Dehydrogenase-Aktivität :

Untersucht wurden insgesamt 30 Liquores.

	Fallzahl	Mittelwert	Streubreite
Normalliquores	8	0,6	0,3 - 0,9

Tumoren	Fallzahl	Mittelwert	Streubreite
Benigne Tu.	11	1,9	0,3 - 7,4
Maligne Tu.	3	1,0	0,8 - 1,2
Metastasen	1	1,0	-
Tumoren insgesamt	15	1,6	0,3 - 7,4

Durch erhöhte Enzym-Aktivität fielen auf 4 von 15 Tumoren :

	Fallzahl	Mittelwert	Streubreite
Oligodendrogliom	2	4,9	2,4 - 7,4
Spongioblastom	1	3,0	-
Glomustumor	1	2,0	-

Übrige Fälle	Fallzahl	Mittelwert	Streubreite
Hirnabszess	1	0,4	-
Subdurales Empyem	1	0,9	-
Arachnoiditis chiasm.	1	0,8	-
Entzl. Orbita-Tumor	1	0,9	-
Aneurysma	1	0,9	-
SAB unkl. Genese	1	1,0	-
Cerebr. raumf. Prozeß unkl. Genese	1	2,2	-

2.5. 3-Phosphoglycerat-Kinase-Aktivität :

Untersucht wurden insgesamt 30 Liquores.

	Fallzahl	Mittelwert	Streubreite
Normalliquores	8	1,4	0,5 - 3,7

Tumoren	Fallzahl	Mittelwert	Streubreite
Benigne Tu.	11	5,3	0,9 - 15,8
Maligne Tu.	3	3,5	2,2 - 4,2
Metastasen	1	2,5	-
Tumoren insgesamt	15	4,7	0,9 - 15,8

Durch erhöhte Enzym-Aktivität fielen auf 4 von 15 Tumoren :

	Fallzahl	Mittelwert	Streubreite
Oligodendrogliom	2	7,1	6,3 - 7,9
Spongioblastom	1	15,8	-
Glomustumor	1	10,0	-

Übrige Fälle	Fallzahl	Mittelwert	Streubreite
Hirnabszess	1	1,0	-
Subdurales Empyem	1	1,6	-
Arachnoiditis chiasm.	1	1,1	-
Aneurysma	1	0,9	-
Entzl. Orbita-Tumor	1	1,6	-
SAB unkl. Genese	1	1,4	-
Cerebr. raumf. Prozeß unkl. Genese	1	3,7	-

2.6. Enolase-Aktivität :

Untersucht wurden insgesamt 17 Liquores.

	Fallzahl	Mittelwert	Streubreite
Normalliquores	6	0,7	0,4 - 1,0

Tumoren	Fallzahl	Mittelwert	Streubreite
Benigne Tu.	4	0,8	0,4 - 0,9
Maligne Tu.	3	0,9	0,7 - 1,1
Metastasen	-	-	-
Tumoren insgesamt	7	0,8	0,4 - 1,1

Übrige Fälle	Fallzahl	Mittelwert	Streubreite
Meningitis	1	1,9	-
Entzl. Orbita-Tumor	1	0,7	-
Enzephalomalazie	1	2,3	-
Intracerebrales Hämatom	1	1,1	-

2.7. Pyruvat-Kinase-Aktivität :

Untersucht wurden insgesamt 26 Liquores.

	Fallzahl	Mittelwert	Streubreite
Normalliquores	6	5,6	3,5 - 7,6

Tumoren	Fallzahl	Mittelwert	Streubreite
Benigne Tu.	7	5,7	3,6 - 13,3
Maligne Tu.	8	6,5	1,3 - 9,2
Metastasen	1	1,7	-
Tumoren insgesamt	16	4,7	1,3 - 13,3

Durch erhöhte Aktivität fielen auf 2 von 16 Tumoren :

	Fallzahl	Mittelwert	Streubreite
Stammhirntumor	1	13,3	-
Maligner Tumor re.temp.	1	9,2	-

Übrige Diagnosen	Fallzahl	Mittelwert	Streubreite
Meningitis	1	13,7	-
Enzephalomalazie	1	13,2	-
Aneurysma	1	10,3	-
Intracerebrales Hämatom	1	6,4	-

2.8. Lactat-Dehydrogenase-Aktivität :

Untersucht wurden insgesamt 62 Liquores.

	Fallzahl	Mittelwert	Streubreite
Normalliquores	10	14,7	7,0 - 23,7

Tumoren	Fallzahl	Mittelwert	Streubreite
Benigne Tu.	21	31,6	5,3 - 202,0
Maligne Tu.	13	16,0	5,3 - 37,7
Metastasen	4	19,8	15,8 - 27,2
Tumoren insgesamt	38	25,1	5,3 - 202,0

Durch erhöhte Aktivität fielen auf 3 von 38 Tumoren :

	Fallzahl	Mittelwert	Streubreite
Tumor des 3. Ventrikels	1	202,0	-
Plexusadenom	1	72,7	-
Glomustumor	1	49,0	-

Übrige Diagnosen	Fallzahl	Mittelwert	Streubreite
Z.n. Schädel-Hirntrauma	2	37,6	5,3 - 69,2
Raumfordernder Prozeß unkl. Genese	2	30,8	30,7 - 30,9
SAB unkl. Genese	1	12,3	-
Subdurales Empyem	2	13,2	12,3 - 14,1
Entzl. Orbita-Tumor	1	12,3	-
Hirnabszess	2	6,6	0,0 - 13,2
Arachnoiditis chiasm.	1	15,8	-
Aneurysma	2	23,2	10,5 - 35,9
Hirnatroph. Prozeß	1	5,3	-

2.9. Glutamat-Pyruvat-Transaminase-Aktivität :

Untersucht wurden insgesamt 35 Liquores.

Tumoren	Fallzahl	Mittelwert	Streubreite
Benigne Tu.	13	1,2	0,4 - 2,5
Maligne Tu.	10	1,7	0,8 - 3,7
Metastasen	4	1,6	0,4 - 3,7
Tumoren insgesamt	27	1,4	0,4 - 3,7

Übrige Diagnosen	Fallzahl	Mittelwert	Streubreite
Z.n. Schädel-Hirntrauma	2	0,5	0,4 - 0,6
Stauungspapille unkl. Genese	1	2,5	-
Subdurales Empyem	1	1,2	-
Abszess	1	3,7	-
Aneurysma	1	0,6	-
Hirnatroph. Prozeß	1	2,5	-
Diskushernie	1	1,2	-
Übrige Diagnosen insgesamt	8	1,5	0,4 - 3,7

Da sich zeigte, daß die Gruppe der Tumoren sich von der der übrigen Diagnosen nicht unterscheidet, wurde auf die Aufstellung gesonderter Normalwerte verzichtet. Es darf angenommen werden, daß sie sich von den hier dargelegten Werten nicht wesentlich unterscheiden.

2.10 Cholinesterase-Aktivität :

Untersucht wurden insgesamt 66 Liquores.

	Fallzahl	Mittelwert	Streubreite
Normalliquores	24	15,0	0,0 - 24,4

Tumoren	Fallzahl	Mittelwert	Streubreite
Benigne Tu.	19	34,0	0,0 - 340,0
Maligne Tu.	6	23,3	13,0 - 38,7
Metastasen	2	52,0	15,5 - 88,5
Tumoren insgesamt	27	33,0	0,0 - 340,0

Durch erhöhte Aktivität fielen auf 5 von 27 Tumoren :

	Fallzahl	Mittelwert	Streubreite
Tumor des 3. Ventrikels	1	340,0	-
Metastasen bei Mamma-Ca	1	88,4	-
Meningeom	2	45,5	35,5 - 55,5
Glioblastom	1	38,7	-

Übrige Diagnosen	Fallzahl	Mittelwert	Streubreite
Z.n. Schädel-Hirntrauma	2	10,8	8,9 - 12,7
Meningitis	1	48,9	-
Cerebr. raumf. Prozeß unkl. Genese	1	0,0	-
SAB unkl. Genese	1	12,3	-
Aneurysma	1	23,6	-
Subdurales Empyem	2	16,0	0,7 - 31,3
Hirnabszeß	2	24,5	11,6 - 37,4
Arachnoiditis chiasm.	1	15,8	-
Entzl. Orbita-Tumor	1	8,4	-
Exophthalmus bds.	1	15,2	-
Liquorfistel	1	21,4	-
Parkinson	1	8,5	-

2.11 Katalase-Aktivität :

Eine meßbare Katalase-Aktivität konnte in keinem der untersuchten Liquores nachgewiesen werden.

III. Besprechung der Befunde

Folgende Themen werden diskutiert :

1. Vergleich der Normalwerte der einzelnen Enzyme untereinander.
2. Vergleich dieser Normalwerte mit der Literatur.
3. Besprechung der bei der Gruppe mit Hirntumoren erhaltenen Ergebnisse und Vergleich mit den Ergebnissen anderer Autoren.
4. Besprechung der Ergebnisse der "übrigen Diagnosen".
5. Praktische Folgerungen aus den Versuchsergebnissen.

1. Die gemessenen Durchschnittswerte der einzelnen Enzyme im Normalliquor sind in der Reihenfolge abnehmender Aktivität tabellarisch zusammengefaßt :

	mU/ml		mU/ml
1. TIM	38,5	6. PGK	1,4
2. ChE	15,0	7. Enolase	0,7
3. LDH	14,7	8. GAPDH	0,6
4. PK	5,6	9. HK	0
5. GPT	1,7	10. Katalase	0

TIM ist also mit Abstand das Enzym mit der höchsten Aktivität. HK + Katalase konnten nie nachgewiesen werden.

2. Vergleichbare Untersuchungen anderer Autoren liegen nur über LDH und GPT vor.
Trotz der von allen Autoren festgestellten großen Schwankungsbreite der Liquorenzyme schon unter normalen Bedingungen und der Verschiedenartigkeit der Versuchsanordnungen, ergibt sich eine weitgehende Übereinstimmung der in dieser Arbeit gefundenen Werte mit denen aus der Literatur bekannten. So

fanden für die LDH (alle Angaben in mU/ml) : BRAUN und LEY (1966) 12,5, BRUNS et al. (1956) im Mittel 16,2, DAVIES-JONES (1969) 17,5, DELANK (1963) 11,1, DITTMANN (1968) 16,2, SITZMANN (1969) 23,9 und VERREY (1962-63) 10,0. Die obere Grenze für LDH gab DAVIES-JONES mit 32,9, DITTMANN mit 34,0 mU/ml an. Für die GPT geben als Normalwerte BRAUN und LEY Werte um 0,4, SCHÜTZ und SOLCHER (1963) 4,1, SITZMANN 2,5 und VERREY 2,2 mU/ml an.

Über ChE liegen fast nur ältere Arbeiten vor (siehe Tabelle 1). Die damals gefundenen Werte sind wegen der völlig anderen Untersuchungsmethoden und Maßeinheiten nur schlecht mit den unsrigen zu vergleichen. Übereinstimmend wird berichtet, daß der Liquor nur geringe Aktivität von ChE enthält, etwa 1/200 der des Serums. Eine Beziehung zwischen Klinik und ChE-Aktivität konnte nicht festgestellt werden. HELLER und Mitarbeiter fanden in einer neuen Arbeit als Normalwerte für ChE 100-157 mU/ml und liegen damit deutlich über den unsrigen. Dabei ist jedoch zu berücksichtigen, daß
1.) die Untersuchungen mit einem anderen Substrat gemacht wurden, nämlich 5 mM Acetylthiocholin bei pH 7,2. In unserem Testansatz benutzten wir 5,7 mM Butyrylthiocholin bei pH 7,7.
2.) Wir haben echte Liquorproben untersucht, während HELLER et al. zur Ermittlung ihrer Normalwerte sich eines Trocken-Liquors der Fa. HYLAND bedienten.

Über das Vorkommen von TIM und PGK im Liquor berichteten BAUER, GABARDE und BÜCHER auf dem Hamburger Neurologen-Kongress 1952. Schriftliche Unterlagen über die damals vorgetragenen Ergebnisse sind nicht mehr vorhanden. Obwohl BÜCHER dieses Referates wegen in der Fachliteratur oft als

Initiator der Liquorenzymforschung zitiert wird, nicht ganz zu Recht wie Tabelle 1 zeigt, wurden diese beiden Enzyme, TIM und PGK, bis jetzt nicht wieder untersucht. Das erscheint um so erstaunlicher, da PETTE in der Hirnrinde von Ratten TIM in einer fast zwanzigfach höheren Aktivität nachweisen konnte als die von vielen Forschern bestimmte LDH. Zwar sind solche an Tieren gewonnenen Ergebnisse nur bedingt auf den Menschen übertragbar, doch konnten wir mit dieser Arbeit beweisen, daß im menschlichen Liquor cerebrospinalis normalerweise mehr als doppelt so viel TIM-Aktivität wie LDH-Aktivität vorhanden ist.

Über PK liegen bisher keine Ergebnisse vor. ENGELHARDT et al. (1958) haben erfolglos versucht, dieses Enzym nachzuweisen. SITZMANN berichtet in seiner Arbeit über das Vorkommen von PK im Liquor, nennt aber keine Zahlen.

Auch HK haben ENGELHARDT et al. versucht nachzuweisen, wie wir ohne Erfolg.

Untersuchungen über Katalase liegen nur in sehr alten Arbeiten vor. STOELTZER (1928) konnte außer in blutigen Liquores normalerweise keine Katalase-Aktivität messen. Bei unseren Untersuchungen wurde aus methodischen Gründen zwar mit verdünntem Liquor gearbeitet und die Empfindlichkeit der Messungen ist deshalb nicht sehr hoch. Die Tatsache jedoch, daß wir niemals eine meßbare Aktivität finden konnten, spricht doch dafür, daß die bei anderen Enzymen gemessenen Werte nicht durch aus Blutzellen stammende Ferment-Aktivitäten beeinflußt wurden.

Der Versuch, Enolase und GAPDH im Liquor nachzuweisen, war bisher noch nicht unternommen worden.

TRAUTMANN hat in seiner Dissertation geprüft, ob nach in vitro-Untersuchungen mit Hirnschnitten in der überstehenden Inkubationslösung Glycolyse-Enzyme nachweisbar sind. In auffallender Übereinstimmung mit unseren Befunden fand auch er die mit Abstand höchste Aktivität für die TIM, es folgen, geordnet in der Reihenfolge abnehmender Aktivität : LDH, PK, Enolase, PGK, GAPDH und HK, wobei auch er für HK keine oder nur äußerst geringe Aktivität messen konnte. (Es sind nur die Enzyme aufgezählt, die auch von uns untersucht wurden.)

3. Die bei der Gruppe der Hirntumorpatienten erhaltenen Ergebnisse sind nochmal tabellarisch zusammengestellt :

Enzym	Anzahl der Hirntumoren	Davon zeigten eine erhöhte Aktivität
TIM	18	0
GAPDH	15	4
PGK	15	4
Enolase	7	0
PK	16	2
LDH	38	3
GPT	27	0
ChE	27	5

Wie die Tabelle zeigt, wurden bei TIM, Enolase und GPT keine, bei den übrigen Enzymen nur manchmal erhöhte Werte bei Hirntumoren gefunden. Mit diesen Befunden stimmen überein die

Ergebnisse von FLEISHER et al. (1957), JAKOBY und JAKOBY (1958), DE RISIO und CUMINGS (1960), TYLER und BROMBERGER (1960), PREC et al. (1962), HEITMANN et al. (1964). Sie alle untersuchten die LDH oder die Transaminasen auch bei Hirntumorpatienten und fanden dabei entweder keine oder nur gelegentliche Steigerungen der LDH-Aktivität im Liquor, so daß sich die Tumorgruppe von den Normalliquores, wie bei uns, nur durch leicht erhöhte Durchschnittswerte unterscheidet. Nach JAKOBY spricht ein Aktivitätsanstieg sogar gegen einen Tumor. Eine Erhöhung deutet eher auf einen cerebrovaskulären Prozeß hin.

WROBLEWSKI (1959) fand erhöhte LDH-Aktivitäten bei allen malignen Tumoren, besonders wenn deren Symptomatologie schon weit fortgeschritten war. Auch BRAUN und LEY (1966) fiel in ihrer Arbeit auf, daß bei 11 von 12 Patienten mit malignen Hirntumoren eine meist erhebliche Aktivitätssteigerung der LDH vorhanden war. Neun Tumorpatienten zeigten noch eine Vermehrung der GPT-Aktivität. SCHÜTZ und SOLCHER (1963) berichten über LDH- und GPT-Erhöhung um mehr als das Dreifache des Normalwertes bei schnell und infiltrierend wachsenden Tumoren. DAVIES-JONES verglich LDH und GOT von 18 primären mit 18 metastatischen Hirngeschwülsten. In der ersten Gruppe war der LDH-Gehalt des Liquors bis auf zwei Tumoren immer im Normbereich. Die Gruppe der Hirnmetastasen zeigte dagegen sechzehnmal pathologische Werte.
HELLER et al. (1971) untersuchten die LDH bei 14 gutartigen und 3 bösartigen Hirntumoren. Auffallend sind die um 90 mU/ml liegenden hohen Durchschnittswerte. Die bösartigen Tumoren fielen dabei noch durch eine unterschiedliche Verteilung der LDH-Isoenzyme auf. Durch eine größere Versuchsreihe sollten diese Ergebnisse kontrolliert werden.

GREEN et al. (1958 u. 1959) fanden bei allen Tumoren des ZNS, ob primär oder metastatisch, eine konstante Erhöhung der LDH.
Diese Befunde können wir nicht bestätigen.

Auch einen Unterschied zwischen benignen, malignen und metastatischen Neoplasmen konnten wir, soweit die geringe Fallzahl ein Urteil darüber überhaupt zuläßt, nicht feststellen. Eher scheint noch ein gewisser Zusammenhang zwischen der Entfernung der Geschwulst vom Liquorraum und der Höhe der Fermentaktivität zu bestehen. Das auffallendste Ergebnis zeigte ein Tumor des 3. Ventrikels mit einer Aktivität von über 200 mU/ml bei LDH und über 300 mU/ml bei ChE. Auch ein Plexusadenom zeigte bei der LDH deutlich erhöhte Werte, nicht jedoch bei ChE.
KLUGE et al., die die Adenosin-Desaminase untersucht haben, fanden auch besonders erhöhte Aktivitäten bei solchen Tumoren, die eine enge Beziehung zum liquorführenden System hatten.

Die Frage, weshalb von den in dieser Studie auf GPT untersuchten 27 Hirntumoren keiner, von den nur 15 auf GAPDH untersuchten Hirntumoren jedoch vier eine erhöhte Aktivität aufwiesen, kann folgendermaßen erklärt werden.
Nach E. u. F.W. SCHMIDT enthält menschliches Großhirn ca. 5000 U GAPDH/g Protein, die GPT-Aktivität beträgt in der Hirnrinde jedoch unter 10, im Großhirnmark sogar unter 1 U/g Protein.
Trotzdem fanden wir im Liquor der Kontrollgruppe mehr GPT als GAPDH. Denkbar ist aber, daß durch Erhöhung des intrakraniellen Druckes, wie er bei Hirntumoren auftritt, es über Verminderung des arterio-venösen Druckgefälles zur Hypoxie

mit Erhöhung der Zellpermeabilität kommt. Die in bis 5000-fach höherer Konzentration vorhandene GAPDH kann dann in wesentlich größeren Mengen als GPT in den Liquor übergehen.

Auch andere, von uns nicht gemessene Enzyme sind im Liquor von Hirntumorpatienten untersucht worden. So berichten ANLYAN und STARR (1952) über erhöhte ß-Glucuronidase-Aktivität bei manchen Fällen von Glioblastoma multiforme. Leicht erhöhte Werte dieses Enzyms fanden auch ALLEN und REAGAN (1964), besonders erhöht soll sie bei diffuser meningealer Carcinomatose sein.
VAN RYMENANT (1960 u. 1966) meint, die Isocitrat-Dehydrogenase wäre ein guter Indikator für das Vorliegen eines Hirntumors. SITZMANN (1969) konnte dies nicht bestätigen.
THOMPSON et al. (1959) fanden bei 21 von 33 Hirntumorpatienten erhöhte Phosphohexose-Isomerase-Aktivität. HERSCHKOWITZ u. CUMINGS (1964) berichten über ansteigende Kreatin-Kinase-Werte bei Geschwülsten des ZNS.
Wir können zu diesen Befunden nicht Stellung nehmen.

4. Unter den übrigen Diagnosen fielen durch erhöhte Aktivität auf :

TIM : Meningitis (2)
GAPDH : raumfordernder Prozeß unkl. Genese (1)
PGK : ø
Enolase : Enzephalomalazie (1)
PK : Meningitis (1), Aneurysma (1)
LDH : Z.n. Schädelhirntrauma (1), Aneurysma (1)
GPT : ø
ChE : Meningitis (1), Hirnabszess (1).

Diese Befunde bestätigen im wesentlichen die schon von anderen Autoren gemachte Erfahrung, daß Enzym-Aktivitätssteigerungen zu einem hohen Prozentsatz auftreten bei cerebro-meningealen Entzündungen, bei cerebro-vaskulären Prozessen und nach traumatischen Hirnschädigungen. Dabei konnte auch eine Relation zwischen der Schwere des klinischen Krankheitsbildes und Höhe der Enzym-Aktivität festgestellt werden.
Interessant bei unseren Ergebnissen erscheint uns der Anstieg der GAPDH bei einem raumfordernden Prozeß unklarer Genese. Wahrscheinlich ist unter den in dieser Arbeit untersuchten Enzymen die GAPDH dasjenige, das am empfindlichsten auf eine intrakranielle Drucksteigerung reagiert. Eine endgültige Aussage darüber muß aber einer größeren Untersuchungsreihe vorbehalten bleiben.

5. Normale Enzymaktivitäten im Liquor von Hirntumorenpatienten sind die Regel, erhöhte Aktivitäten kommen nur in einem geringen Prozentsatz vor. Mit Aktivitätssteigerungen gehen aber auch andere Krankheiten des ZNS einher. Für den Einzelfall bedeutet dies : eine normale Aktivität schließt einen Tumor nicht aus, eine erhöhte Aktivität ist noch kein Beweis. Wir kommen deshalb zu dem Schluß, daß der Bestimmung der von mir im Liquor cerebrospinalis untersuchten Enzyme als Hilfsmittel in der Diagnostik von Hirntumoren noch keine praktische Bedeutung zukommt.

IV. Zusammenfassung

Hexokinase, Triosephosphat-Isomerase, Glycerinaldehyd-3-phosphat-Dehydrogenase, 3-Phosphoglycerat-Kinase, Enolase, Pyruvat-Kinase, Lactat-Dehydrogenase, Glutamat-Pyruvat-Transaminase, Cholinesterase und Katalase wurden durch Photometrie im Liquor cerebrospinalis gemessen unter besonderer Herausstellung von Tumoren im Bereich des ZNS. In den als Kontrolle untersuchten Normalliquores wurden folgende Enzyme gefunden, geordnet in der Reihenfolge abnehmender Aktivität : TIM, ChE, LDH, PK, GPT, PGK, Enolase und GAPDH. Hexokinase und Katalase konnten in keinem der untersuchten Liquores nachgewiesen werden. Die Aktivität von Enolase und GAPDH wurde mit dieser Arbeit zum ersten Mal im Liquor bestimmt.
Bei der Gruppe der Hirntumoren lagen die gemessenen Enzym-Aktivitäten zum überwiegenden Teil im Streubereich der Normalwerte. Deutlich erhöhte Aktivitäten wurden nur manchmal beobachtet bei GAPDH, PGK, LDH und ChE. Ein Unterschied zwischen benignen, malignen und metastatischen Geschwülsten konnte nicht erkannt werden.
Enzymaktivitätssteigerungen wurden auch gemessen bei cerebromeningealen Entzündungen, bei cerebrovaskulären Prozessen und nach traumatischen Hirnschädigungen.
Aus den Resultaten wird gefolgert, daß die Enzymaktivitätsbestimmung im Liquor cerebrospinalis als Hilfsmittel in der Diagnostik von Hirntumoren noch keine praktische Bedeutung hat.

V. Schrifttumsverzeichnis

1. ANLYAN, A. and STARR, A. : ß-glucuronidase activity of spinal and ventricular fluids in humans. Cancer 5, (1952):578-580

2. ALLEN, N. and REAGAN, E. : ß-glucuronidase activities in cerebrospinal fluid. Arch. Neurol. (Chicago) 11, (1964) : 144-154

3. BAUER, H., GABARDE, K.H. und BÜCHER, Th.: Hamburger Neurologen Kongress 1952

4. BERGMEYER, H.-U.: Methoden der enzymatischen Analyse. Verlag Chemie GmbH, Weinheim/Bergstr. (1962): 3-55

5. BERNSOHN, J., BOSHES, B. and POSSLEY, L. : The study of cholinesterase and alesterase in various neurological diseases. Neurology (Minneap.) 8 (1958): 221-226

6. BOEHRINGER, Mannheim : Informationsblätter Biochemica Katalog 1967

7. BRAUN, H. und LEY, H. : Quantitative Bestimmung der GPT, GOT, und LDH im Liquor als Hilfsmittel der Artdiagnose neurologischer Erkrankungen. Münch. Med. Wschr. 108 (1966): 1562-1566

8. BRUNS, F.H., JAKOB, L., WEVERINCK, F. : Phosphohexoisomerase, phosphoriboseisomerase and lactic acid dehydrogenase in spinal fluid. Clin. Chim. Acta 1 (1956): 63-66

9. DAVIES-JONES, G.A.B. : Lactate dehydrogenase and glutamic oxalacetic transaminase of the cerebrospinal fluid in tumors of the central nervous system.
J. Neurol. Neurosurg. Psychiat.
32 (1969): 324-327

10. DELANK, H.W. : Enzyme des Kohlenhydratstoffwechsels im Liquor cerebrospinalis bei neurologischen Erkrankungen.
Dtsch. Z. Nervenheilk. 184 (1963): 632-640

11. DITTMANN, J. : Lactatdehydrogenase im Liquor cerebrospinalis von Kindern.
Dtsch. Z. Nervenheilk. 192 (1968): 310-316

12. DITTMANN, J., HERRMANN, H.D., LOEW, F., PALLESKE, H. : Über Atmung und Glukolyse menschlicher Hirntumoren in vitro.
Zentralblatt für Neurochirurgie
30 (1969): 120-127

13. DITTMANN, J. : Zur Technik der Messung NADH-verbrauchender Enzymreaktionen in Cerebrospinalflüssigkeit.
Z. klin. Chem. u. klin. Biochem.
8 (1970): 442

14. ENGELHARDT-GÖLKEL, A., FRICK, E., SCHRADER, A., STUHLFAUTH, K.: Untersuchungen über Vorkommen und Eigenschaften von Enzymen und Coenzymen des KH-Stoffwechsels im Liquor cerebrospinalis.
Klin. Wschr. 36 (1958): 580-585

15. FAZIO, C., FIESCHI, C., und SORIANI S.: Die Bestimmung der Transaminaseaktivität im Liquor. Eine Untersuchung an 192 Fällen mit cerebrovaskulären Schäden und 50 Fällen mit Hirntumoren.
Conf. neurol. (Basel) 21 (1961): 326-344

16. FLEISHER, G.A., WAKIM, K.G. and GOLDSTEIN, N.P.: Glutamic-oxalacetic transaminase and lactic dehydrogenase in serum and cerebrospinal fluid of patients with neurologic disorders.
Proc. Mayo Clin. 32 (1957): 188-197

17. FRICK, E.: Über die Kreatinkinase im Liquor cerebrospinalis.
Klin. Wschr. 45 (1967): 973-977

18. GREEN, J.B., OLDEWURTEL, H.A., O'DOHERTY, D.S., FORSTER, F.M., SANCHEZ-LONGO, L.P. : Cerebrospinal fluid glutamic oxalacetic transaminase activity in neurologic disease.
Neurology (Minneap.) 7 (1957): 313-322

19. GREEN, J.B., OLDEWURTEL, H.A., O'DOHERTY, D.S., FORSTER, F.M. : Cerebrospinal fluid GOT and LDH-activities in neurologic disease.
Arch. Neurol. Psychiat. (Chic.) 80 (1958): 148-156

20. GREEN, J.B., OLDEWURTEL, H.A., FORSTER, F.M. : Glutamic oxalacetic transaminase and lactic-dehydrogenase activities. Study in the cerebrospinal fluid of brain tumor patients, in normal human brain and in brain tumor homogenates.
Neurology, (Minneap.) 9 (1959): 540-544

21. GREEN, J.B. and PERRY, B.S.M. : Leucinaminopeptidase activity in cerebrospinal fluid. Neurology, (Minneap.) 13 (1963): 924-926

22. GUZOWSKI, K. and KNOBLOCH, J. : Disorders of the nervous system. Activity of acid and alkaline phosphatase in the cerebrospinal fluid. Arch. Neurol. (Chic.) 8 (1963): 105-111

23. HEITMANN, R., LÖSER, R. und STAMMLER, A. : Beiträge zur Fermentbestimmung in Liquor cerebrospinalis. Dtsch. Z. Nervenheilk. 186 (1964): 121-136

24. HELLER, W., OLDENKOTT, P., DRIESEN, W., ELIES, W. und BLANKENHORN, H.: Klinisch-chemische Untersuchungen zur Früherfassung von bösartigen Hirn-Tumoren. Ärztl. Forschung 2 (1971): 44-47

25. HERSCHKOWITZ,N., and CUMINGS, J.N. : Creatine-kinase in cerebrospinal fluid. J. Neurol. Neurosurg. Psychiat. 27 (1964): 247-250

26. HILLER, F. : Die Beziehung der degenerativen Veränderungen des Zentralnervensystems zu seinem Gehalt an Fett und Ester spaltenden Enzymen sowie der Nachweis sowohl dieser Enzyme als auch von Lipoidstoffwechselschlacken des Nervengewebes im Liquor cerebrospinalis. Z. Neurol. 109 (1927): 263-312

27. HOHENEGGER, M. u. BUCHINGER, W.: Serum und Liquortransaminase bei entzündlichen Erkrankungen des Zentralnervensystems. Wien. Z. inn. Med. 46 (1965): 57-66

28. JAKOBY, R.K. and JAKOBY, W.B. : Lactic dehydrogenase of cerebrospinal fluid in the differential diagnosis of cerebrovascular disease and brain tumor. J. Neurosurg. 15 (1958): 45-51

29. KAFKA, V. : Über die Fermente des Liquor cerebrospinalis. Neurolog. Zentralblatt 31 (1912): 627-629

30. KALSBEEK, F., COHEN, J.A. and BOVENS, B.R. : Cholinesterase in cerebrospinal fluid. Biochim. biophysica Acta 5 (1950): 548-560

31. KATZMANN, R., FISHMAN, R.A., and GOLDENSOHN, E.S. : Glutamic-oxalacetic transaminase activity in cerebrospinal fluid. Neurology (Minneap.) 7 (1957): 853-857

32. KLUGE, H. und WIECZOREK, V. : Über Oxydoreduktasen (Elektronentransportfermente) im Liquor cerebrospinalis. Dtsch. Z. Nervenheilk. 188 (1966): 300-307

33. KLUGE, H., WIECZOREK, V., UNGER, F. und GREGER, J. : Über den Ursprung und das Verhalten der OCT im Liquor cerebrospinalis bei neurologisch-psychiatrischen Erkrankungen. Psychiat. Neurol., Basel 154 (1967): 88-94

34. KLUGE, H., WINKLER, K.G., WIECZOREK, V., VOLLHARDT, A. : Adenosindesaminase im Liquor cerebrospinalis bei neurologisch-psychiatrisch Kranken. Klin. Wschr. 47 (1969): 1268-1269

35. KOVACS, E. : Ribonuclease in cerebrospinal fluid. Canad. J. med. Sci. 31 (1953): 437-438

36. KULHANEK, U.and KABELACOVA, M.: Aldolase activity in cerebrospinal fluid. Clin. Chim. Acta 10 (1964): 27-33

37. LIEBERMANN, J., DAUBER, O., KULKIN, S.I., LOBSTEIN, O.E., and KAPLAN, M.R.: Glutamic oxalacetic transaminase in serum and cerebrospinal fluid of patients with cerebrovascular accidents. New Engl. J. Med. 257 (1957): 1201-1207

38. LISAK, R.P. and GRAIG, F.A. : Lack of diagnostic value of creatine phosphokinase assay in spinal fluid. J. Amer. med. Ass. 199 (1967): 750-751

39. MANN, S.H., DE PASQUALE, N., PATERSON, R. : Cerebrospinal fluid-glutamic-oxalacetic transaminase in patients receiving electroconvulsive therapy and in neurologic diseases. Neurology (Minneap.) 10 (1960): 381-390

40. MANSO, C., and WROBLEWSKI, F. : Glutathione reductase activity in blood and body fluids. J. clin. Invest. 37 (1958): 214-218

41. MARCHIONINI, A. und OTTENSTEIN, B. Der Diastasegehalt des Liquor cerebrospinalis. Klin. Wschr. 11 (1932): 1345-1348 und 1424-1426

42. MIYAZAKI, M. : Glutamic oxaloacetic transaminase in cerebrospinal fluid. J. Nerv. and Ment. Dis. 126 (1958): 169-175

43. MYERSON, R.M., HURWITZ, J.K. and SALL, T. : Serum and Cerebrospinal Fluid Transaminase concentrations in various neurologic disorders. New Eng. J. Med 257 (1967): 273-276

44. NATHAN, M.J. : Creatine phosphokinase in the cerebrospinal fluid. J. Neurol. Neurosurg. Psychiat. 30 (1967): 52-57

45. PETTE, D. : Aktivitätsmuster und Ortsmuster von Enzymen des energieliefernden Stoffwechsels. Sonderdruck aus "praktische Enzymologie", Verlag Hans Huber, Bern und Stuttgart, (1968): 15-52

46. PREC, A., KRYSA, I. and MAYER, J. : Serum and fluid Transaminase in nervous diseases. Csl. Neurol. 24 (1962): 380-386 ref. Zbl. Neurol. 168 (1962): 21

47. PÜTTER, J. : Eine Methode zur Bestimmung der Katalaseaktivität mit kleinen Substratkonzentrationen. Hoppe-Seyler's Z. Physiol. Chemie 329 (1962): 40-51

48. PÜTTER, J. und STRUFE, R. : Eine Verbesserung der enzymatischen Bestimmung von H_2O_2. Anwendung auf die Glucose-Bestimmung.
Clin. Chimica Acta 15 (1967): 159-163

49. QUASTEL, J.H. : The structure and function of nervous tissue.
Editor G.H. Bourne Vol. III p. 69
Academic Press New York and London 1969

50. DE RISIO, C. and CUMINGS, J.N. : Some enzyme studies in cerebral tumors and in the cerebrospinal fluid.
Riv. Neurobiol. 6 (1960): 535-545
ref. Zbl. Neurol. 163 (1961): 241

51. VAN RYMENANT, M. and ROBERT, J. : Enzymes in cancer. II. The Isocitric Dehydrogenase of the Cerebrospinal Fluid in various Cancerous and Non Cancerous Conditions.
Cancer 13 (1960): 878-881

52. VAN RYMENANT, M., ROBERT, J. and OTTEN, J. : Isocitric dehydrogenase in cerebrospinal fluid.
Neurology (Minneap.) 16 (1966): 351-354

53. SCHMIDT, E.V., SCHMIDT, F.W. : in "Methoden der Enzymatischen Analyse" 2. Auflage 1970, herausgegeben von H.-U. BERGMEYER, Verlag Chemie, GmbH Weinheim/Bergstr.

54. SCHÜTZ, E. und SOLCHER, H. : Über den diagnostischen Wert von Fermentbestimmungen im Liquor.
Dtsch. Z. Nervenheilk. 185 (1963): 488-501

55. SEUBERLING, O.: Über den Lipasegehalt des Liquor cerebrospinalis.
Dtsch. Z. Nervenheilk. 146 (1938): 187

56. SHERWIN, A.L., NORRIS, J.W., BULCKE, J.A. : Spinal fluid creatine kinase in neurologic disease.
Neurology (Minneap.) 19 (1969): 993-999

57. SHUTTLEWORTH,EC. ALLEN, N. : Early differentiation of chronic meningitis by enzyme assay.
Neurology, (Minneap.) 18 (1968): 533-542

58. SITZMANN, F.C.: Untersuchung über Enzymaktivitäten im Liquor cerebrospinalis bei Kindern mit Encephalitis, seröser Meningitis und Hydrocephalus.
Z. Kinderheilk. 106 (1969): 76-88

59. STERN, K., CULLEN, A.M., BARBER, V.T. and RICHTER, R. : Peptidases in the cerebrospinal fluid.
Canad. med. Ass. J. 63 (1950): 473-475

60. STEVENS, J.D., MAJKA, F.A., HUMOLLER, F.L.: Transaminase-activity in the spinal fluid in neuro-psychiatric conditions.
Dis. nerv. Syst. 20 (1959): 460-465
ref. Zbl. Neurol. 156 (1960): 35

61. STOELTZNER, W.: Katalasereaktion des Liquor cerebrospinalis. Münchner med. Wochenschrift 52 (1928): 996

62. SVENSMARK, O. : Cholinesterase in human spinal fluid and brain. Acta physiol. scand. 52 (1961): 372-378

63. SWINNEN, J. et de BARSY, Th. : Teneur du liquide cephalo-rachidien en gamma-glutamyl-peptidase et leucine amino-peptidase. Acta neurol. Belg. 66 (1966): 939-945

64. SZASZ, G. : Die Enzymaktivitäten im Liquor bei Kindern mit Meningitis. Acta neurol. scand. 1 (1962): 38-74

65. SZASZ, G. : Über die physiologische Leucin-Aminopeptidase-Aktivität in Serum und Liquor. Klin. Wschr. 40 (1962): 1256-1257

66. THOMPSON, H.G., HIRSCHBERG, E., OSNOS, M. and GELLHORN, A. : Evaluation of phosphohexose isomerase activity in cerebrospinal fluid in neoplastic disease of the central nervous system. Neurology (Minneap.) 9 (1959): 545-552

67. TRAUTMANN, D. : Sind nach in vitro-Untersuchungen mit Hirnschnitten in der überstehenden Inkubationslösung Glycolyse-Enzyme nachweisbar ? Inauguraldissertation, Saarbrücken, med. Fak. 1970

68. TSCHANKOW, I.A. und DIKOW, A.L.: Isoenzyme der Fructose-Phosphat-Aldolase im Liquor cerebrospinalis bei organischen Erkrankungen des Nervensystems.
Z. klin. Chem. u. klin. Biochem.
8 (1970): 33-34

69. TYLER, H.R. and BROMBERGER, L.: A study of lactic dehydrogenase activity of cerebrospinal fluid.
J. nerv. ment. Dis. 130 (1960): 54-60

70. VERREY, F. : Die diagnostische Bedeutung der Glutamat-Oxalacetat-Transaminase, der Glutamat-Pyruvat-Transaminase, der Lactat-Dehydrogenase und der Sorbit-Dehydrogenase des Liquors im Kindesalter.
Enzymol. biol. clin. 2 (1962): 233-245

71. WAKIM, K.G. and FLEISHER, G.A.: The effect of experimental cerebral infarction on transaminase activity in serum, cerebrospinal fluid and infarcted Tissue.
Mayo clin. Proc. 31 (1956): 391-399

72. WARBURG, O. : Wasserstoffübertragende Fermente.
Verlag Dr. Werner Saenger GmbH
Berlin, (1948): 31-55

73. WEBER, H. : Mikromethode zur Bestimmung der Ornithin-Carbamoyl-Transferase (OCT) in Serum und Liquor.
Klin. Wschr. 41 (1963): 37-40

74. WIECHERT, P. : Vorkommen und Aktivitäten von Peptidasen im Liquor cerebrospinalis.
Acta biol. med. germ. 16 (1966): 11-14

75. WIECHERT, P., BRETSCHNEIDER, T. : Untersuchungen zur Peptidaseaktivität im Liquor cerebrospinalis.
Dtsch. Z. Nervenheilk. 195 (1969): 26-32

76. WOLFF, H. und ZERNA, M. : Das Verhalten der Malatdehydrogenase und Lactatdehydrogenase im Liquor nach Schädel-Hirntrauma.
Zbl. Chir. 90 (1965): 701-705

77. WOLLEMANN, M. und HUSZAK, I.: Über den Ursprung der Acetylcholinesterase in pathologischen Liquores.
Wien. Klin. Wschr. 61 (1949): 90-92

78. WOLINTZ, A.H., JAKOBS, L., CHRISTOFF, N., SOLOMON, M. and CHERNIK, N. : Serum and cerebrospinal fluid enzymes in cerebrovascular disease.
Arch. Neurol. 20 (1969): 54-61

79. WROBLEWSKI, F., DECKER, B. and WROBLEWSKI, R.: Activity of lactic dehydrogenase in spinal fluid.
Amer. J. Clin. Path. 28 (1957): 269-271

80. WROBLEWSKI, F., DECKER, B. and WROBLEWSKI, R.: The clinical implications of spinal fluid lactic dehydrogenase activity.
New Eng. J. Med. 258 (1958): 635-639

81. WROBLEWSKI, F.: The significance of alterations in lactic dehydrogenase activity of body fluids in the diagnosis of malignant tumors.
Cancer (Philad.) 12 (1959): 27-39

VI. Verzeichnis der Abkürzungen

ADP	Adenosin-5'-diphosphorsäure
ATP	Adenosin-5'-triphosphorsäure
ChE	Cholinesterase
DAP	Dihydroxyacetonphosphat
EDTA	Äthylendiamintetraessigsäure
GAP	Glycerinaldehyd-3-phosphat
GAPDH	Glycerinaldehyd-3-phosphat-Dehydrogenase
GDH	Glycerin-1-phosphat-Dehydrogenase
Glycerat-2-P	Glycerat-2-phosphat
Glycerat-3-P	Glycerat-3-phosphat
Glycerat-1,3-P_2	Glycerat-1,3-diphosphat
G-6-P	Glukose-6-phosphat
G-6-PDH	Glukose-6-phosphat-Dehydrogenase
Glukonat-6-P	Glukonat-6-phosphat
GPT	Glutamat-Pyruvat-Transaminase
HK	Hexokinase
LDH	Lactat-Dehydrogenase
NAD^+	Nicotinamid-adenin-dinucleotid
NADH	Nicotinamid-adenin-dinucleotid reduziert
$NADP^+$	Nicotinamid-adenin-dinucleotidphosphat
NADPH	Nicotinamid-adenin-dinucleotidphosphat reduziert.
P_i	anorganisches Phosphat
PEP	Phosphoenol-pyruvat
PGK	3-Phosphoglycerat-Kinase
PK	Pyruvat-Kinase
TIM	Triosephosphat-Isomerase
TRA	Triäthanolamin-Hydrochlorid

Herrn Prof. Dr. med. F. Loew möchte ich an dieser Stelle danken für die Überlassung des Themas dieser Arbeit.

Weiterhin gilt mein Dank Herrn Dr. rer. nat. J. Dittmann für seine großartige Unterstützung und Geduld bei der Beratung in großen und kleinen Fragen.

Auch möchte ich Herrn Dr. med. Faulhauer danken für die bestimmt nicht immer einfache Besorgung der Liquorproben und das Aufschreiben der zugehörigen Diagnosen.

L e b e n s l a u f

Am 9. Februar 1944 wurde ich, Michael Stiffel, als zweites von drei Kindern des Dr. Ing. Rudolf Stiffel und seiner Ehefrau Hanna, geb. Kresse, in Regensburg geboren.

Im Herbst 1950 wurde ich eingeschult.
Von 1956 bis 1963 besuchte ich die Georg-Herwegh-Schule (Oberschule Wissenschaftlichen Zweiges) in Berlin-Hermsdorf, an der ich am 1. März 1963 das Abitur bestand.

Von 1963 bis 1970 war ich an der Universität des Saarlandes für das Fach Medizin immatrikuliert.
Am 15. Dezember 1970 bestand ich die ärztliche Prüfung.

Seit dem 1. Februar 1971 bin ich als Medizinalassistent an dem Städt. Krankenhaus Berlin-Hohengatow beschäftigt.